

A HMGB-1 felszabadulás és a RAGE gén polimorfizmus szerepének vizsgálata septicus folyamatokban és neurodegeneratív kórképekben.

HMGB1 vizsgálatok

1. *In vitro* kísérleteink során megállapítottuk, hogy humán monocyták, illetve monocytoid sejtek (U-937) különböző bakteriális indukerek-így *M.bovis* (BCG) hatására is képesek HMGB1 (High mobility group box 1 protein) termelésére, melyet ELISA, Western blot módszerrel és tömegspektrometriával azonosítottunk. A HMGB-1 megjelenését a cytoplazmában immunfluoreszcens módszerrel is kimutattuk.
2. A septicus, valamint a pancreatitisben szenvedő betegek összehasonlító vizsgálata alapján azt tapasztaltuk, hogy a HMGB1 szérumszintje elsősorban súlyos akut necrotizáló pancreatitisben emelkedett, és ez párhuzamos a plazmában keringő szabad DNS koncentrációjával. Mindez arra utal, hogy a HMGB1 súlyos akut pancreatitiseben egyrészt a gyulladásos folyamatok, másrészt a necrosis miatt emelkedik, és így, mint késői citokin, a patogenezis lényeges tényezője. A pancreatitises betegek szérumában meglepő módon fordított arányt tapasztaltunk a HMGB1 és a solubilis RAGE (sRAGE) koncentrációi között, míg sepszisben ez a két érték egymással pozitív correlációban volt.
3. A HMGB1 további vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a NMDA antagonistá kinurénsav, mely *in vitro* gátolta a TNF-alfa termelést, szignifikánsan csökkent a monocyták HMGB1 szekrécióját is.
4. Megvizsgáltuk a HMGB1 szerepét törpe sertés septicus modellben; összehasonlítottuk az enyhe és súlyos sepszisben való emelkedés mértékét. Törpe sertéseken végzett kísérletekben klinikailag releváns sepszis modellünkben igen korán, már a sepszis 6-16. órája között a plazma HMGB1 szignifikánsan emelkedett és a VO₂-DO₂ arány jelentősen csökkent a 24. órára, párhuzamosan a sublinguális mikrokeringéssel. Nem súlyos sepszisben, valamint a kontroll állatokban nem volt HMGB1 változás. Konklúzió: igazoltuk a high mobility group box 1 (HMGB1) gyulladásos mediátor szint emelkedése és a szöveti oxigénfelvétel, valamint a GI mikrokeringés romlása közötti összefüggést, amely alapján egyrészt, a HMGB1 prognosztikai jelentőségű lehet, másrészt farmakológiai terápiás célpont lehet sepszisben.

A RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products) a HMGB-1 egyik receptora. Megvizsgáltuk szerepét stroke-ban. A RAGE G82S, valamint a -374 T/A, és -429 T/C SNP-k és a stroke között (280 beteg vizsgálata alapján) azonban nem találtunk összefüggést. A RAGE fent említett polimorfizmusait viszont sclerosis multiplexben szenvedő betegeknél is megvizsgáltuk, és szignifikáns eltérést találtunk a genotípusok vonatkozásában SM betegek esetében

A stroke-os betegek vizsgálatát pedig a továbbiakban kiegészítettük a NOD1 E266K SNP meghatározásokkal RFLP módszerrel, párhuzamosan a betegek szérumának *Chlamydia pneumoniae* antitest vizsgálatával. Szignifikáns összefüggést találtunk a NOD1 SNP és a *Chlamydia* fertőzés együttes előfordulása és a nagyér elváltozással járó stroke között.

Defenzin

Mivel újabban a HMGB1-et és a defenzint is az un. *alarminok* közé sorolják, célul tűztük ki, hogy pancreatitisben együtt vizsgáljuk a HMGB1 és a defenzin szerepét, mégpedig az un. egy nukleotidos polimorfizmusok (SNP k) vizsgálata alapján. Az SNP vizsgálatainkhoz RFLP és TaqMan módszereket alkalmaztunk. A HMGB1 SNP vizsgálatokat a későbbiekben nem folytattuk, mivel igen alacsony (1-2) %-ban találtunk mutáns genotípusokat 100 egyén vizsgálata alapján.

A defenzin β -1 három SNP-jének vizsgálata során megállapítottuk, hogy a DEFB4 három promoter polimorfizmusa rizikó tényezőként szerepelhet súlyos *acut pancreatitisben*. Azt is kimutattuk, hogy az inducibilis beta defenzin-2 copiaszám variációit is érdemes vizsgálni, ugyanis az alacsony (< 4) copia szám hajlamosít az acut pancreatitis súlyosabb formájára.

A humán beta defenzin *in vitro* vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy az agyi endothel sejtek is képesek az inducibilis beta defenzin 2 termelésére, *Chlamydophyla pneumoniae* fertőzést követően. Ez a megfigyelés alátámasztotta azt a feltételezésünket, hogy ischaemiás stroke esetében az antibakteriális védekezés csökkenése is rizikó faktor lehet. Ezzel kapcsolatban kimutattuk, hogy az inducibilis defenzin beta-2 csökkent kopia száma nagyobb százalékban figyelhető meg strokeos betegekben.